Iranian Food Science and Technology
Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 20, No. 4, Oct.-Nov. 2024, p. 433-446

Effect of the Controlled Fermented Sprouted Lentil Containing Fennel Extract on the Characteristics of Wheat Bread

M. Rasoulifar[1], A. Sadeghi[1*], F. Hajinia[1], M. Ebrahimi[2], M. Ghorbani[1]

1- Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
(*- Corresponding Author Email: asadeghi@gau.ac.ir)
2- Food, Drug & Natural Products Health Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Received: 02.12.2023 Revised: 02.02.2024 Accepted: 06.02.2024 Available Online: 07.02.2024	**How to cite this article:** Rasoulifar, M., Sadeghi, A., Hajinia, F., Ebrahimi, M., & Ghorbani, M. (2024). Effect of the controlled fermented sprouted lentil containing fennel extract on the characteristics of wheat bread. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 20*(4), 433-446. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.85646.1299

Introduction

Wheat bread is a staple food worldwide, and bread making using sourdough is one of the oldest technologies. In this regard, the use of legume sourdough is important in improving the quality of wheat bread. Sprouted legumes are also proper substrates rich in bioactive compounds for sourdough fermentation to produce enriched products. Furthermore, application of herbal extracts in sourdough formulation is a simple way to enhance organoleptic properties and mold-free shelf-life of the produced sourdough bread. Considering positive effects of sourdough on techno-functional properties of the produced bread, the aim of the present study was to enhance quality parameters of wheat bread using controlled fermented sprouted lentil containing fennel extract.

Materials and Methods

In the present study, predominant lactic acid bacteria (LAB) were isolated using the sequential back-slopping process from fermented sprouted lentil containing fennel extract. The isolates were screened based on their antifungal activities against *Aspergillus niger*. The selected isolates were identified through amplification of the target sequence with 1500 bp from its *16S rDNA* gene and sequencing of the PCR products. After that, controlled fermentation containing selected LAB isolates (as a starter culture) was performed in processing of wheat bread. Crumb hardness, specific volume, water activity, overall acceptability and surface growth rate of the target fungus were compared in the produced breads. In order to determine the effects of the substrate, fermentation and germination, suitable samples were produced. The results of the present study were also analyzed in a completely randomized design with three replications, and Duncan test at $P<0.05$ significant difference was used to compare the mean.

Results and Discussion

Sequencing results of the PCR products (amplicons) led to the identification of *Pediococcus acidilactici* as the selected LAB isolate. Addition of lentil sourdough to wheat bread significantly ($P<0.05$) reduced the weight loss and crumb hardness of wheat bread and also increased its specific volume without significant effect. Among the produced breads, the lowest specific volume was belonged to the sample containing lentil and the highest specific volume was observed in the control sample. Moreover, fermentation and sprouting reduced the surface growth of *A. niger* in the produced breads. The surface growth rate of the fungus in the bread containing fermented sprouted lentil was also significantly lower than those of the control sample. In addition, wheat bread containing fermented

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.85646.1299

sprouted lentil received the highest overall acceptability score among the produced enriched breads. It is reported that the positive effects of controlled sourdough on textural features of the produced bread are mainly associated with the acidification activity of the starter culture used. Production of organic acids and other inhibitory metabolites by the sourdough starter culture is also involved in its antifungal activity in the product. Moreover, production of volatile and non-volatile aroma precursors during sourdough fermentation affect sensory attributes of the sourdough bread.

Conclusion

Nowadays, consumer demand for healthy products with minimal processing and with no synthetic additives such as clean-label foods, and the use of bio-preservatives (application of microorganisms and their metabolites to prevent spoilage and increase the shelf-life of the product) has become a growing trend. Application of legumes as a good source of protein, other nutrients and essential components in bread formulation is important for their use in the daily diet. According to the results of the present study, controlled fermented sprouted lentil containing fennel extract can be used as an antifungal compound and texture improver in bakery industries. Overall, the use of plant extracts with antifungal effects as well as controlled fermentation of sourdough with selected LAB as protective/starter culture can reduce the use of chemical preservatives in bread.

Keywords: Antifungal effect, Enriched wheat bread, Fermented sprouted lentil, Protective culture

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۴، مهر-آبان ۱۴۰۳، ص. ۴۴۶-۴۳۳

تأثیر تخمیر کنترل شده عدس جوانه‌زده حاوی عصاره رازیانه بر ویژگی‌های نان گندم

مینا رسولی‌فر[۱]- علیرضا صادقی[۱*]- فهیمه حاجی‌نیا[۱]- مریم ابراهیمی[۲]- محمد قربانی[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۷

چکیده

استفاده از خمیرترش حبوبات در بهبود ویژگی‌های کیفی نان، حایز اهمیت است. در این پژوهش، باکتری‌های اسید لاکتیک غالب با استفاده از فرآیند مایه‌گیری[۳] متوالی از عدس جوانه‌زده تخمیر شده حاوی عصاره رازیانه، جداسازی و سپس بر اساس خاصیت ضدقارچی بر ضد *Aspergillus niger* غربال شدند. در ادامه، جدایه منتخب دارای بیشترین اثر ضد قارچی با تکثیر توالی هدف ۱۵۰۰ جفت بازی از ژن *16S rDNA* آن و توالی‌یابی یک‌طرفه محصولات PCR به روش سانگر شناسایی گردید. در مرحله بعد، تخمیر کنترل شده حاوی جدایه لاکتیکی منتخب (به‌عنوان کشت آغازگر) در تهیه نان گندم مورد استفاده قرار گرفت. سپس سفتی بافت (N)، حجم مخصوص (cm^3g^{-1})، فعالیت آبی، پذیرش کلی و میزان توسعه سطحی قارچ (٪) در نان‌های تولیدی مقایسه شدند. توالی‌یابی محصولات PCR منجر به شناسایی *Pediococcus acidilactici* به‌عنوان جدایه لاکتیکی منتخب گردید. افزودن خمیرترش عدس به نان گندم در مقایسه با نان حاوی عدس به شکل معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) سبب کاهش افت وزن و سفتی بافت و همچنین بدون اثر معنی‌دار باعث افزایش حجم مخصوص آن شد. از بین نان‌های تولیدی، کمترین مقدار حجم مخصوص به نمونه حاوی عدس و بیشترین مقدار حجم مخصوص به نمونه شاهد اختصاص یافت. همچنین تخمیر و جوانه‌زنی سبب کاهش رشد سطحی قارچ در نان‌های تولیدی شد. میزان توسعه سطحی قارچ در نان حاوی عدس جوانه‌زده تخمیر شده نیز نسبت به نمونه شاهد به شکل معنی‌داری کمتر بود. علاوه بر این، نان گندم حاوی عدس جوانه‌زده تخمیر شده بیشترین امتیاز پذیرش کلی را از بین نان‌های غنی شده به خود اختصاص داد.

واژه‌های کلیدی: اثر ضد قارچی، عدس جوانه‌زده تخمیر شده، کشت محافظت کننده، نان گندم غنی شده

مقدمه

اخیرا استفاده از حبوبات به‌منظور بهبود ویژگی‌های نان گندم، مورد توجه قرار گرفته است. حبوبات از نظر تغذیه‌ای غنی و دارای اسیدهای آمینه ضروری هستند (Jenkins *et al*., 2012). از بین حبوبات، عدس یک منبع غنی از پروتئین‌های گیاهی، پپتیدهای زیست فعال، ترکیبات فنولی و حاوی تمام اسیدهای آمینه ضروری است (Romano *et al*., 2021). به‌طور کلی افزودن آرد حبوبات به آرد گندم به‌دلیل کاهش گلوتن، کیفیت نان تولیدی را کاهش می‌دهد. لذا برای رفع این مشکل از حبوبات تخمیرشده یا جوانه‌زده تخمیر شده استفاده می‌شود. استفاده از خمیرترش (یک سیستم زیستی پیچیده حاصل از تخمیر آرد با آب که اساس تشکیل آن همزیستی بین باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمرهایی است که مسئول ور آوردن و اسیدی کردن خمیر هستند) می‌تواند به‌عنوان راهکار مناسبی برای تهیه نان با کیفیت محسوب گردد. تخمیر خمیرترش بدون اثرات نامطلوب، منجر به بهبود بافت، عطر و طعم نان تولیدی می‌شود (Axel., 2016; Gobbetti *et al*., 2014). جوانه‌زنی نیز به‌دلیل بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای، افزایش فعالیت آنزیمی و ترکیبات زیست‌فعال و همچنین افزایش زیست دسترسی[۴] به این ترکیبات مورد توجه قرار گرفته است (Nelson *et al*., 2013). یکی دیگر از افزودنی‌های طبیعی، عصاره و اسانس‌های

۱- گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
(*- نویسندهٔ مسئول: Email: sadeghi.gau@gmail.com)
۲- مرکز تحقیقات فرآورده‌های غذایی، دارویی و طبیعی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.85646.1299

3- Back-slopping
4- Bioavailability

گیاهی هستند. این ترکیبات به‌نحو گسترده‌ای به‌عنوان نگهدارنده زیستی و اصلاح کننده ویژگی‌های حسی فرآورده‌های غذایی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (Axel *et al*., 2017).

تاکنون تأثیر تخمیر کنترل شده خمیرترش‌های آرد کامل گندم (Sadeghi *et al*., 2019)، آرد بلوط (Purabdolah *et al*., 2020)، آرد جو دوسر (Hajinia *et al*., 2021)، آرد سبوس غلات (Ebrahimi *et al*., 2022) و آرد کینوا (Rouhi *et al*., 2023) حاوی جدایه لاکتیکی منتخب خمیرترش به‌عنوان کشت آغازگر/محافظت‌کننده با هدف بهبود ویژگی‌های کیفی و کنترل کپک‌زدگی در نان مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین گزارش‌هایی در خصوص استفاده از حبوبات جوانه‌زده و تخمیر شده در فرآوری نان منتشر شده است. به‌عنوان مثال، مونتمورو و همکاران (Montemurro *et al*., 2019) ضمن بررسی اثر تخمیر کنترل شده و جوانه‌زنی حبوبات در تولید نان، گزارش کردند که بین حجم مخصوص نمونه‌های تولیدی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت اما سفتی بافت نان‌های خمیرترشی حاوی آرد جوانه‌زده بیشتر از سفتی بافت نان خمیرترشی حاوی آرد جوانه‌زده بود. همچنین نان‌های تولیدی از پذیرش کلی مناسبی برخوردار بودند. نیونلی و همکاران (Nionelli *et al*., 2018) ضمن استفاده از تخمیر کنترل شده گندم حاوی عصاره رازک به‌عنوان نگهدارنده طبیعی در تهیه نان، مشاهده کردند که خمیرترش گندم حاوی عصاره رازک، رشد قارچ را به تعویق انداخت. همچنین ویژگی‌های بافتی نان‌های تولیدی بهبود و حجم مخصوص آنها افزایش یافت. ایراکلی و همکاران (Irakli *et al*., 2019) نیز با بررسی اثر خمیرترش سبوس برنج حاوی عصاره رازک گزارش کردند که حجم نان تولیدی افزایش و خصوصیات حسی آن بهبود یافت.

با توجه به بررسی منابع انجام شده تا کنون استفاده توأم از آرد عدس جوانه‌زده و عصاره رازیانه در نان خمیرترشی گزارش نشده است. لذا هدف از پژوهش حاضر، بهبود ویژگی‌های کیفی نان گندم با استفاده از تخمیر کنترل شده (حاوی جمعیت مشخصی از جدایه لاکتیکی منتخب به‌عنوان کشت آغازگر) آرد عدس جوانه‌زده حاوی عصاره رازیانه بود.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد اولیه و تعیین ویژگی آن‌ها

جوانه‌زنی عدس با اندکی تغییرات به روش دونکور و همکاران (Donkor *et al*., 2012) انجام شد. دانه‌ها بعد از شستشو با هیپوکلرید سدیم (۰/۵ درصد)، ۲۴ ساعت در آب خیسانده و در محیط تاریک تا زمان جوانه‌زنی نگهداری شدند. سپس دانه‌های جوانه‌زده با رطوبت نهایی ۱۰ درصد در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت، خشک و در نهایت آسیاب (آسان توس شرق، ایران) گردیدند. در ادامه محتوای رطوبت، پروتئین، خاکستر و چربی (٪) آردهای گندم و عدس مطابق روش‌های مدون (AACC, 2010) و همچنین محتوای کربوهیدرات تام آنها بر اساس معادله ٪ (چربی + خاکستر + پروتئین + رطوبت) – ۱۰۰ تعیین شد. مواد شیمیایی و محیط‌های کشت میکروبی مورد استفاده نیز از برندهای تجاری معتبر (Merck، آلمان و Liofilchem، ایتالیا) خریداری گردیدند. آرد گندم و آرد عدس مورد استفاده در این پژوهش به‌ترتیب دارای ۱۲/۴ و ۲۹/۲٪ پروتئین، ۰/۴ و ۱/۳٪ خاکستر، ۱۴/۳ و ۱۰/۸٪ رطوبت، ۲/۱ و ۳/۵٪ چربی و ۷۰/۸ و ۵۵/۲٪ کربوهیدرات تام بودند.

تخمیر تصادفی عدس جوانه‌زده حاوی عصاره رازیانه

بعد از تهیه عصاره ۲۵ درصدی رازیانه به روش ایراکلی و همکاران (Irakli *et al*., 2019)، خمیرترشی با بازده خمیر (۱۰۰× مقدارآرد/ مقدار خمیر) معادل ۵۰۰ در ظروف استریل، حاوی آرد عدس جوانه‌زده و عصاره رازیانه تهیه و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. سپس فرآیند مایه‌گیری[1] (افزودن ۳۰ درصد از خمیرترش روز قبل به آرد تازه و آب) تا رسیدن pH به حدود ۴ و اسیدیته قابل تیتر[2](TTA) ثابت، طی تکرارهای متوالی انجام شد (Rizzello *et al*., 2014; Perri *et al*., 2021). به‌منظور ارزیابی TTA (برحسب اسید لاکتیک)، ۱۰ گرم از خمیرترش در ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر یکنواخت شد. سپس محلول مذکور توسط NaOH با نرمالیته ۰/۱ تا pH معادل ۸/۵ تیتر شد و اسیدیته بر حسب سود مصرفی گزارش گردید (Rizzello *et al*., 2014).

جداسازی و غربالگری باکتری‌های اسید لاکتیک غالب خمیرترش

بدین منظور با تهیه رقت‌های متوالی از آخرین مایه‌گیری و کشت سطحی در محیط کشت MRS[3] باکتری‌های اسید لاکتیک غالب جداسازی شده و برای خالص‌سازی آنها از کشت خطی استفاده گردید. در ادامه، جدایه‌های غالب با استفاده از آزمون کاتالاز، رنگ‌آمیزی گرم و مشاهده میکروسکوپی مورد بررسی قرارگرفتند. برای غربالگری جدایه‌های لاکتیکی بر اساس اثر ضدقارچی آنها از روش کشت دو لایه در برابر *Aspergillus niger* PTCC 5012 استفاده گردید. در این روش از کشت فعال جدایه لاکتیکی، خطوطی به اندازه سه سانتی‌متر با فاصله متناسب از یکدیگر در مرکز پلیت‌های حاوی محیط کشت MRS

1- Back-slopping
2- Total titratable acidity
3- de Man, Rogosa and Sharpe

agar کشت داده و به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس سوسپانسیون اسپور قارچ (۱۰^۶ عدد در هر میلی‌لیتر) در محیط کشت YGC agar [1] روی خطوط کشت داده شده جدایه‌های لاکتیکی خمیرترش مذکور ریخته شد و پس از انعقاد لایه دوم، پلیت‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد تا زمانی‌که نمونه شاهد (فاقد کشت باکتری اسید لاکتیک) تمام سطح پلیت را پوشاند، گرمخانه‌گذاری شدند. سرانجام میزان سطح عدم رشد قارچ در اطراف خطوط کشت داده شده جدایه‌های لاکتیکی در مقایسه با پلیت شاهد فاقد کشت باکتری اسید لاکتیک (۱۰۰٪ رشد قارچ) با نرم‌افزار (نسخه 1.42e) Image J تعیین گردید (Magnusson *et al*., 2003).

استخراج DNA و شناسایی جدایه لاکتیکی منتخب

DNA جدایه لاکتیکی منتخب (دارای بیشترین اثر ضد قارچی) با استفاده از کیت استخراج (Bioneer, South Korea) تهیه و سپس توسط PCR [2] با پرایمرهای عمومی F44 (RGTTYGATYMTGGCTCAG) و R1543 (GGNTACCTTKTTACGACTT)، تکثیر (۳۰ چرخه حرارتی اصلی شامل واسرشت در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمر در ۵۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه و طویل‌سازی تکثیر در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶۰ ثانیه)، طویل‌سازی نهایی (در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷ دقیقه) و متعاقبا محصولات PCR (توالی ۱۵۰۰ جفت بازی از جایگاه *16S rDNA*)، توالی‌یابی (پیشگام، ایران) گردید. برای تأیید اولیه تکثیر، محصولات PCR به ژل آگارز ۱/۵ درصد منتقل و در بافر TBE در حضور نمونه کنترل مثبت (DNA استخراج شده از باکتری *Lactobacillus plantarum* PTCC 1896) و کنترل منفی (فاقد DNA)، الکتروفورز انجام شد. محصولات PCR پس از توالی‌یابی با استفاده از رویه Blast [3] با داده‌های موجود در پایگاه اطلاعاتی NCBI [4] همردیف شدند (Abnous *et al*., 2009).

تخمیر کنترل شده و فرآوری نان

برای تهیه نان گندم با خمیرترش عدس جوانه‌زده حاوی عصاره رازیانه، خمیرترش با بازده خمیر ۵۰۰ با جایگزینی عصاره رازیانه به جای آب و تلقیح باکتری اسید لاکتیک منتخب (10^8 CFUg^{-1}) پس از ۲۴ ساعت تخمیر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تهیه گردید (Nionelli *et al*., 2018). لازم به ذکر است که در تهیه خمیر نان گندم حاوی خمیرترش عدس جوانه‌زده، ۳۰ درصد خمیرترش استفاده شد (Perri *et al*., 2021). برای تهیه نان شاهد، آرد گندم، مخمر نانوایی (دو درصد وزنی/وزنی) و آب با هم مخلوط گردیدند. سپس این مخلوط به‌مدت ۱۲۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و متعاقبا در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه در فر الکتریکی (Feller، آلمان) پخته شد. نان‌های تولیدی شامل نان‌های گندم حاوی عدس، عصاره رازیانه، عدس جوانه‌زده، عدس جوانه‌زده تخمیر شده، عدس تخمیر شده، عدس جوانه‌زده تخمیر شده + عصاره رازیانه و نان گندم حاوی پروپیونات کلسیم بودند که در شرایط مشابه با نمونه شاهد فرآوری گردیدند.

تعیین فرمولاسیون بهینه نان

در این پژوهش برای به‌دست آوردن بهترین درصد عصاره، عصاره آبی رازیانه با درصدهای مختلف (۶/۲۵، ۱۲/۵، ۱۸/۷۵ و ۲۵) تهیه و در فرمولاسیون نان مورد استفاده قرار گرفت. سپس بر اساس پذیرش کلی نان‌های تولیدی میزان بهینه عصاره رازیانه تعیین شد.

ویژگی‌های نان‌های تولیدی

سفتی بافت و حجم مخصوص

برای بررسی میزان سفتی بافت نان‌های تولیدی از دستگاه بافت‌سنج (Stable Microsystem، انگلستان) استفاده شد. بدین منظور پس از گذشت دو ساعت از پخت نان، آزمون نفوذ در نمونه‌ها با پروب استوانه‌ای به قطر ۱/۲۷ سانتی‌متر، سرعت پروب یک میلی‌متر در ثانیه و نقطه شروع ۵۰ گرم انجام گرفت. نیروی لازم جهت ایجاد ۵۰ درصد فشردگی در ضخامت اولیه با رسم منحنی نیرو- فاصله به‌عنوان سفتی بافت مغز نان اندازه‌گیری شد (Katina *et al*., 2006). همچنین حجم مخصوص نان‌های تولیدی به روش جابجایی دانه کلزا تعیین شد و مقادیر آن با نمونه شاهد مقایسه گردید (AACC, 2010). فعالیت آبی نان‌های تولیدی نیز به روش دستگاهی توسط aw متر (Novasina-LabSwift، سوئیس) و افت وزن از طریق اختلاف وزن نان تولیدی با وزن خمیر نان قبل از پخت تعیین شد.

میزان توسعه سطحی قارچ

برای بررسی میزان توسعه قارچ شاخص *A. niger* در سطح نان های تولیدی از روش گرز و همکاران (Gerez *et al*., 2009) استفاده شد. بدین منظور، سوسپانسیون اسپور قارچ (۱۰^۶ اسپور در میلی‌لیتر) تنظیم شده پس از شمارش توسط لام هموسایتومتر بر روی دیسک کاغذی استریل در مرکز نان، تلقیح شد و سپس به‌مدت یک هفته در

1- Yeast Glucose Chloramphenicol agar
2- Polymerase chain reaction
3- Basic Local Alignment Search Tool
4- National Center for Biotechnology Information

دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید. سپس قطر هاله رشد قارچ با نرم‌افزار Image J تعیین گردید.

پذیرش کلی

برای بررسی پذیرش کلی نان‌های تولیدی از آزمون هدونیک پنج نقطه‌ای (یک برای کمترین و پنج برای بیشترین امتیاز) دو ساعت پس از پخت استفاده شد. برای این منظور، ارزیابان آموزش دیده، خصوصیات نان‌های تولیدی شامل شکل، رنگ، عطر، طعم و احساس دهانی را ارزیابی کرده و سپس میانگین امتیازها تعیین و به‌عنوان پذیرش کلی ارائه گردید (Rizzello *et al*., 2010).

آنالیز آماری

نتایج حاصل از این پژوهش بر اساس طرح پایه کاملا تصادفی در سه تکرار و با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۰) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. همچنین از آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری (LSD)[1] در سطح P <۰/۰۵ جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

نتایج و بحث

اسیدیته قابل تیتر و pH خمیرترش

همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است مقدار اسیدیته قابل تیتر روز اول مایه‌گیری معادل ۸/۷۰ و pH آن برابر۶/۲۳ بود. در روز دهم مقدار pH (۴/۰۴) با اختلاف معنی‌داری (P <۰/۰۵) به کمترین مقدار خود رسید ولی مقادیر اسیدیته قابل تیتر از روز پنجم تا دهم اختلاف معنی‌داری نداشت. به‌طور کلی هر عاملی که بتواند بر فلور میکروبی خمیرترش تأثیر بگذارد (نوع سوبسترا، فرمولاسیون خمیر و شرایط تخمیر)، می‌تواند بر pH و اسیدیته قابل تیتر خمیرترش نیز مؤثر باشد. از آنجا که pH بهینه برای باکتری‌های اسید لاکتیک حدود ۳/۵ تا ۴/۵ گزارش شده است (Graça *et al*., 2021). لذا در پژوهش حاضر نیز ثبات اسیدیته قابل تیتر در pH حدود ۴/۰۰ به‌عنوان شاخص ثبات جمعیت میکروبی خمیرترش و خاتمه فرآیند مایه‌گیری در نظر گرفته شد.

آریاشاد و همکاران (Aryashad *et al*., 2023) پس از تهیه خمیرترش ماش جوانه‌زده با بازده خمیر ۲۰۰ و تخمیر شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت گزارش کردند که پس از ۵ روز pH از ۵/۴۸ به ۴/۱۵ و اسیدیته قابل تیتر از ۱۹/۴۱ به ۴۲/۴۵ رسید. میزان بالاتر اسیدیته قابل تیتر و pH کمتر در پژوهش حاضر می‌تواند به‌دلیل جایگزینی آب با عصاره رازیانه باشد زیرا عصاره‌های گیاهی دارای خاصیت ضدمیکروبی بوده (Axel *et al*., 2017) و در نتیجه مانع از رشد برخی از باکتری‌های اسید لاکتیک می‌شوند. مونتمورو و همکاران (Montemurro *et al*., 2019)، خمیرترشی با باکتری‌های اسید لاکتیک منتخب از آردهای جوانه‌زده گندم، جو، عدس، نخود و کینوا با بازده خمیر ۱۶۰ تخمیر شده به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد تهیه کردند. همانطور که انتظار می‌رفت بعد از ۲۴ ساعت، اسیدیته قابل تیتر خمیرترش مذکور، افزایش و pH آن کاهش یافت. همچنین اسیدیته قابل تیتر در آردهای جوانه‌زده تخمیر شده نسبت به شکل غیر جوانه‌زده آنها بیشتر بود. مقادیر pH نهایی در تمام نمونه‌های خمیرترش بدون اختلاف معنی‌داری به محدوده ۳/۸۵– ۴/۴۴ کاهش پیدا کرد و pH اولیه خمیرترش عدس جوانه‌زده (۵/۹۹) نیز پس از ۲۴ ساعت به ۴/۳۹ و اسیدیته قابل تیتر آن از ۸/۲ به ۲۱/۰۰ رسید. میزان بالاتر اسیدیته قابل تیتر و pH کمتر در پژوهش حاضر، علاوه بر جایگزینی آب با عصاره رازیانه می‌تواند به‌دلیل تفاوت در دمای تخمیر باشد زیرا دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای رشد مخمرها نسبت به باکتری‌های اسید لاکتیک مناسب‌تر است. همچنین رشد باکتری های اسید لاکتیک بر جمعیت مخمرها مؤثر بوده و در نهایت، تولید اسید لاکتیک افزایش یافته و در نتیجه سبب افزایش میزان اسیدیته قابل تیتر خمیرترش می‌شود. همچنین معمولا تعداد دفعات زیاد مایه‌گیری نیز به سود باکتری‌های اسید لاکتیک است چرا که سرعت رشد و تکثیر آنها بیشتر از مخمرها بوده و با اسیدی کردن محیط، امکان رشد را برای مخمرها محدود می‌کنند (Vogelmann & Hertel, 2011).

غربالگری جدایه‌های لاکتیکی بر اساس اثر ضدقارچی

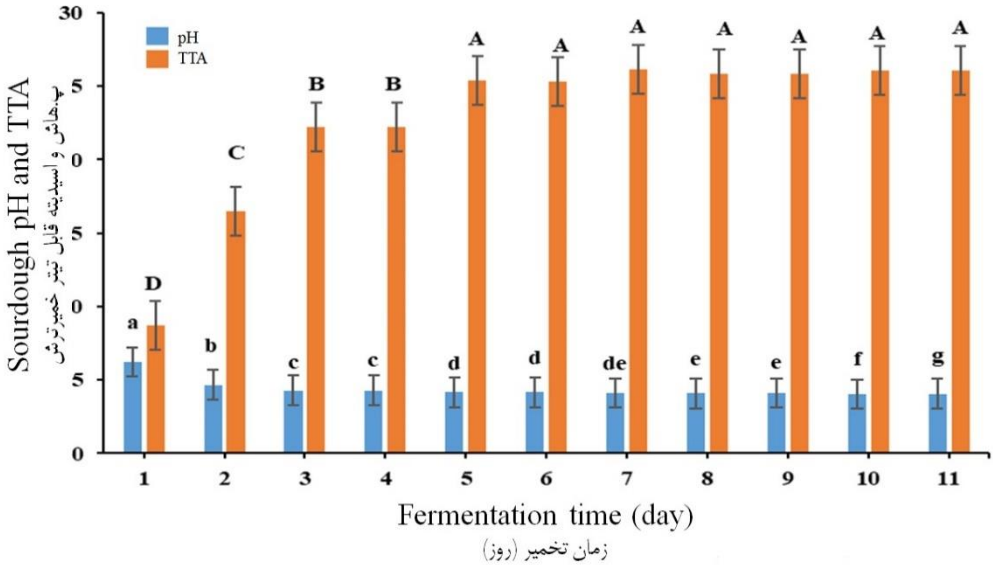
پس از آخرین مایه‌گیری، چهار باکتری اسید لاکتیک (یک میله‌ای کوتاه و ۳ عدد کروی) گرم مثبت و کاتالاز منفی جداسازی شدند. ارزیابی اثر ضدقارچی جدایه‌های لاکتیکی غالب به روش کشت دو لایه در برابر *A. niger* در شکل ۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود جدایه B بیشترین اثر ضدقارچی (۰/۳۴ ± ۳۱ درصد) را داشت. در پژوهش‌های دیگری نیز نشان داده شده است که باکتری‌های اسید لاکتیک غالب با اثر ضدقارچی جدا شده از خمیرترش می‌توانند به‌عنوان کشت آغازگر محافظت‌کننده در تولید نان خمیرترشی مورد استفاده قرار گیرند (Hajinia *et* Purabdolah *et al*., 2020; *al*., 2021). اثر ضدمیکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک خمیرترش نیز به متابولیت‌های ضدمیکروبی تولید شده توسط آنها و همچنین کاهش دسترسی به مواد مغذی برای رشد سایر میکروارگانیسم‌ها مرتبط می‌باشد (Sadeghi *et al*., 2023).

1- Least Significant Difference

شناسایی مولکولی جدایه منتخب

تکثیر توالی هدف ژن *16S rDNA* جدایه لاکتیکی منتخب عدس جوانه‌زده تخمیرشده حاوی عصاره رازیانه توسط ژل الکتروفورز محصولات PCR مورد تأیید قرار گرفت (شکل ۳). توالی‌یابی محصولات PCR در مقایسه با داده‌های موجود در بانک جهانی ژن نیز منجر به شناسایی *Pediococcus acidilactici RFSL* (با ۹۸ درصد مشابهت) به‌عنوان جدایه لاکتیکی منتخب خمیرترش شد.

پری و همکاران (Perri *et al.*, 2020) طی پژوهشی با بررسی تأثیر فرآیند جوانه‌زنی بر باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از حبوبات (عدس و نخود) دریافتند که باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از آرد جوانه‌زده و غیر جوانه‌زده باهم متفاوت بودند. در واقع جوانه‌زنی به‌دلیل فعالیت آنزیمی، سوبستراهای پیچیده را به سوبستراهای ساده‌تر تبدیل کرده و سبب تنوع جمعیت میکروبی می‌شود و احتمال جداسازی جدایه های متفاوت را بیشتر می‌کند. آریاشاد و همکاران (Aryashad *et al.*, 2023) در مطالعه‌ای با استفاده از خمیرترش ماش جوانه‌زده *Pediococcus pentosaceus* را به‌عنوان جدایه لاکتیکی غالب شناسایی کردند. تفاوت نتایج پژوهش مذکور با پژوهش حاضر می‌تواند به‌دلیل تفاوت سوبسترا باشد زیرا در پژوهش حاضر به‌دلیل وجود خاصیت ضدمیکروبی عصاره رازیانه، تنها باکتری‌های مقاوم به این شرایط، توانایی رشد و غالب شدن در اکوسیستم خمیرترش را داشتند. علاوه بر این، مقدار مایه‌گیری و بازده خمیر در پژوهش مذکور با پژوهش حاضر متفاوت است.

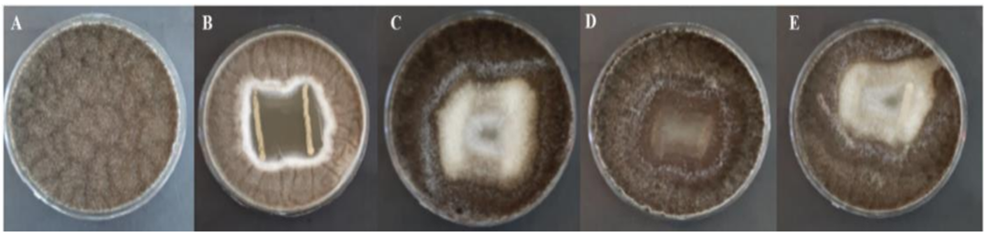


شکل ۱- تغییرات pH و اسیدیته قابل تیتر (TTA) خمیرترش عدس جوانه‌زده حاوی عصاره رازیانه در طی زمان تخمیر

حروف کوچک و بزرگ متفاوت به‌ترتیب، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $P<0.05$ بین مقادیر pH و TTA هستند.

Fig. 1. pH and total titratable (TTA) changes of sprouted lentil sourdough containing fennel extract during fermentation time

The different lowercase and uppercase letters indicate significant differences at $P<0.05$ among the pH and TTA values, respectively.

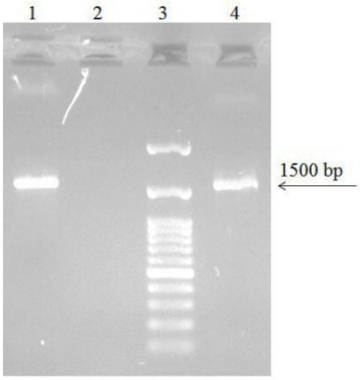


شکل ۲- اثر ضدقارچی جدایه‌های لاکتیکی غالب عدس جوانه‌زده تخمیر شده حاوی عصاره رازیانه به روش کشت دو لایه در برابر *A. niger*

A: شاهد، B: جدایه لاکتیکی منتخب، C، D و E: جدایه‌های لاکتیکی غیرمنتخب.

Fig. 2. Antifungal effects of the predominant lactic acid bacteria (LAB) isolated from fermented sprouted lentil containing fennel extract on *A. niger* in overlay bioassay

A: control, B: selected LAB isolate, C, D and E: non-selected LAB isolates.



شکل ۳- ژل الکتروفورز محصولات PCR. لاین ۱: کنترل مثبت (محصول PCR حاصل از DNA استخراج شده از باکتری *L. plantarum* PTCC 1896)، لاین ۲: کنترل منفی (فاقد DNA)، لاین ۳: لدر (۱۰۰ جفت بازی، Simbio در محدوده ۱۰۰ تا ۲۰۰۰ جفت باز) و لاین ٤: تکثیر جایگاه هدف در DNA جدایه لاکتیکی منتخب خمیرترش عدس جوانه زده حاوی عصاره رازیانه

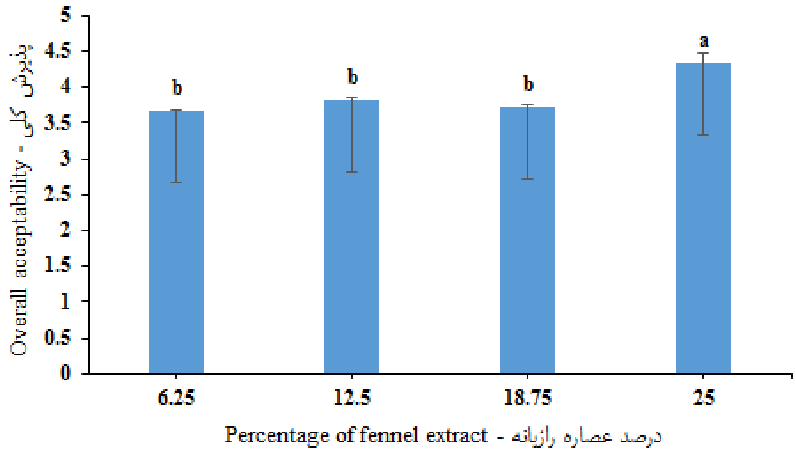
Fig. 3. Gel electrophoresis of the PCR products. Lane 1: positive control (PCR products obtained from amplification of the extracted DNA from *L. plantarum* PTCC 1896), lane 2: negative control (without DNA), lane 3: ladder (100 bp DNA marker, Simbio), lane 4: amplified target sequence in DNA of the selected LAB isolated from sprouted lentil sourdough containing fennel extract

در ابتدا اکثر میکروارگانیسم‌های موجود در خمیرترش می‌توانند رشد کنند اما با افزایش تعداد دفعات مایه‌گیری، میکروارگانیسم‌هایی که بیشترین توانایی سازگاری با محیط را داشته باشند، باقی می‌مانند (Sekwati-Monang *et al.*, 2012).

فرمولاسیون بهینه نان

همانطورکه مشاهده می‌شود نان حاوی ۲۵ درصد عصاره رازیانه به لحاظ پذیرش کلی بالاترین امتیاز را به خود اختصاص داد (شکل ۴).

تعیین فرمولاسیون بهینه در نان حاوی عصاره‌های گیاهی از اهمیت زیادی برخوردار است چرا که مستقیما بر ویژگی‌های حسی و فعالیت مخمر نانوایی و یا فلور میکروبی نان‌های خمیرترشی تأثیر می‌گذارد. زنده‌مانی مناسب جدایه لاکتیکی منتخب در غلظت بهینه عصاره رازیانه (۲۵ درصد) مورد استفاده در فرمولاسیون خمیرترش نیز بررسی و مورد تأیید قرار گرفت. عموما باکتری‌های اسید لاکتیک از قابلیت تحمل مناسبی در برابر بسیاری از عصاره‌های گیاهی (که غلظت‌های به مراتب کمتری از اسانس‌های گیاهی دارند) برخوردار هستند.



شکل ٤- میزان پذیرش کلی نان گندم حاوی درصدهای مختلف عصاره رازیانه جهت تعیین درصد بهینه عصاره رازیانه در فرمولاسیون نان

حروف متفاوت، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $P<0/05$ هستند.

Fig. 4. Overall acceptability of the produced wheat breads containing different amounts of fennel extract to determine optimal percentage of the extract in bread formulation

Different letters show significant difference at $P<0.05$.

ویژگی‌های نان‌های تولیدی

توسعه سطحی قارچ

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود تخمیر و جوانه‌زنی سبب کاهش رشد سطحی قارچ در نان‌های تولیدی شدند. رشد سطحی قارچ در نان گندم حاوی عدس جوانه‌زده تخمیر شده نسبت به نان گندم حاوی عدس جوانه‌زده بدون اختلاف معنی‌دار ($P >$۰/۰۵) کمتر از نمونه شاهد بود اما رشد سطحی قارچ در نان گندم حاوی عصاره رازیانه افزایش نشان داد. این در حالی است که رشد سطحی قارچ در نان‌های تخمیر شده حاوی عصاره رازیانه با تفاوت معنی‌داری ($P <$۰/۰۵) کاهش یافت.

جدول ۱- رشد سطحی قارچ و pH نان گندم (C) در مقایسه با نان‌های گندم حاوی پروپیونات کلسیم (CP)، عصاره رازیانه (E)، عدس (L)، عدس جوانه‌زده (SL)، عدس تخمیر شده (FL)، عدس جوانه‌زده تخمیر شده (FSL)، عدس جوانه‌زده تخمیر شده + عصاره رازیانه (FSL + E) و عدس تخمیر شده + عصاره رازیانه (FL + E) پس از هفت روز نگهداری در دمای محیط

Table 1- Fungal surface growth and crumb pH of wheat bread (C) compared to wheat bread samples containing calcium propionate (CP), fennel extract (E), lentil (L), sprouted lentil (SL), fermented lentil (FL), fermented sprouted lentil (FSL), fermented sprouted lentil + fennel extract (FSL + E) and fermented lentil + fennel extract (FL + E) after seven storage days at room temperature. Different letters in each column indicate significant difference at *P*<0.05

نمونه نان Bread sample	هاله رشد قارچ Fungal growth zone (%)	هاله سیاه رشد قارچ Black zone of the fungal growth (%)	pH مغز نان Crumb pH	اولین روز مشاهده قارچ First day of the fungal growth
C	54.00±2.82^{b}	36.00 ± 0.00^{b}	6.09 ± 0.22^{a}	2.00 ± 0.00^{b}
CP	29.00 ±7.07^{d}	24.00 ±7.00^{d}	6.25 ± 0.06^{a}	3.00 ± 0/00^{a}
E	69.00 ±10.60^{a}	41.50 ± 0.70^{a}	6.18 ±0.14^{a}	1.50 ± 0.70^{b}
L	47.50±10.60^{bc}	40.00 ±5.65^{a}	6.24± 0.07^{a}	2.00 ± 0.00^{b}
SL	43.00± 0.70^{c}	23.00 ± 7.77^{d}	6.14 ±0.03^{a}	1.50 ± 0.70^{b}
FL	44.00±12.02^{c}	25.00 ± 5.56^{d}	4.71± 0.16^{b}	0.00^{b} ± 2.00
FSL	40.50±1.41^{c}	20.50 ± 0.22^{e}	4.63 ±0.02^{b}	0.00^{b} 2.00 ±
FL+ E	48.00±11.31^{bc}	34.00±0.70^{c}	4.62±0.00^{b}	1.50 ± 0.70^{b}
FSL+E	39.00± 0.70^{c}	21.00± 3.350^{e}	4.70 ± 0.07^{b}	± 0.00^{b} 2.00

حروف متفاوت در هر ستون، تفاوت معنی‌دار در سطح $P<$۰/۰۵ را نشان می‌دهند.

Different letters show significant difference at *P*<0.05.

نیونلی و همکاران (Nionelli *et al*., 2018) مشاهده کردند که در نان حاوی عصاره رازک و نان خمیرترشی حاوی عصاره رازک، رشد قارچ به تعویق افتاد. همچنین نان خمیرترشی حاوی رازک، بیشترین اثر ضدقارچی را داشت که مشابه نان مخمری حاوی ۰/۳ درصد پروپیونات کلسیم بود. پژوهشگران مذکور، علت مهار رشد قارچ در نان‌های تولیدی را به اسیدهای ضعیف عصاره رازک نسبت دادند. با این وجود، افزودن خمیرترش حاوی عصاره رازک عمدتا به‌دلیل اسیدی شدن توسط باکتری اسید لاکتیک و تولید طیف وسیعی از ترکیبات با وزن مولکولی پایین همچون پپتیدهای ضدقارچی نتایج بهتری به همراه داشت. همانند نتایج پژوهش حاضر، آریاشاد و همکاران (Aryashad *et al*., 2023) گزارش کردند که رشد سطحی قارچ *A. niger* بر روی نان گندم حاوی ماش جوانه‌زده تخمیر شده به شکل معنی‌داری کمتر از نان‌های گندم حاوی ماش، ماش جوانه‌زده و ماش تخمیر شده بود. ریزلو و همکاران (Rizzello *et al*., 2017) نیز طی پژوهشی با بررسی فعالیت ضدقارچی عصاره محلول در آب نمک حبوبات (نخود فرنگی، عدس و لوبیا چیتی) به‌منظور افزایش زمان ماندگاری نان گندم، گزارش کردند که این ترکیبات می‌توانند به‌عنوان یک نگهدارنده زیستی طبیعی برای افزایش ماندگاری نان مورد استفاده قرار گیرند.کاهش رشد قارچ در نان گندم حاوی عدس، عدس جوانه‌زده و عدس تخمیر شده می‌تواند به‌دلیل پروتئین‌های آرد عدس باشد زیرا در چندین پژوهش، فعالیت ضدقارچی پروتئین یا پپتیدهای حبوبات در نان تأیید شده است (Coda *et al*., 2008; Rizzello *et al*., 2015; Rizzello *et al*., 2017).

ویژگی‌های بافتی

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود در نان گندم حاوی عدس در مقایسه با نمونه شاهد به شکل معنی‌داری ($P <$۰/۰۵)، حجم مخصوص کاهش یافت اما سفتی بافت و افت وزن افزایش نشان دادند. همچنین نان گندم حاوی عدس جوانه‌زده در مقایسه با نان گندم حاوی عدس، حجم مخصوص کمتر، سفتی بافت و افت وزن بیشتری داشت. افزودن خمیرترش عدس به نان در مقایسه با نان حاوی عدس به شکل معنی‌داری سبب کاهش افت وزن و سفتی بافت و همچنین بدون اثر معنی‌دار باعث افزایش حجم مخصوص آن شد. علاوه بر این، افزودن عدس جوانه‌زده تخمیر شده نسبت به نان حاوی عدس جوانه‌زده سبب افزایش سفتی بافت و کاهش حجم مخصوص نان تولیدی شد. استفاده از حبوبات در نان به‌دلیل کاهش میزان گلوتن و افزایش محتوای فیبر، سبب افزایش سفتی بافت و کاهش حجم مخصوص آن می‌شود (Naqash *et al*., 2017). آتودوری و همکاران (Atudorei *et al*.,

2022) مشاهده کردند که افزودن آرد باقلای جوانه‌زده سبب بهبود حجم مخصوص و بهبود بافت نان تولیدی شد. بهبود حجم نان بعد از افزودن آردهای جوانه‌زده به‌دلیل افزایش فعالیت آنزیمی در طی جوانه زنی، تغییر در محتوای پروتئین و ژلاتینه شدن نشاسته می‌باشد. علاوه بر این، فعال شدن آمیلاز در طی جوانه‌زنی منجر به افزایش قندهای قابل تخمیر و افزایش انتشار دی‌اکسیدکربن می‌شود. همچنین تجزیه جزئی نشاسته منجر به افزایش انبساط سلول‌های گازی می‌گردد (Guardado-Félix *et al.*, 2020). مطابق نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر، در مطالعاتی ضمن بررسی تأثیر جوانه‌زنی و تخمیر خمیرترش با باکتری اسید لاکتیک منتخب به‌منظور بهبود ویژگی‌های نان گندم مشاهده شد که سفتی بافت نان‌های خمیرترشی حاوی دانه های جوانه‌زده بیشتر از نان خمیرترشی دانه‌های غیر جوانه‌زده بود. این روند ممکن است نتیجه تغییراتی باشد که در طول جوانه‌زنی حبوبات و همچنین در طی تخمیر خمیرترش رخ می‌دهد (Montemurro *et al.*, 2019; Patrascu *et al.*, 2019).

همچنین آنزیم‌های هیدرولیتیک مختلف بر روی نشاسته و پروتئین‌ها به‌عنوان ترکیبات ماکرومولکولی با نقش تعیین‌کننده در سفتی بافت نان، اثر گذاشته و ساختار ذاتی و در نتیجه رفتار آنها را در مواد غذایی تغییر می‌دهند (Coda *et al.*, 2017). از آنجایی‌که هر آنزیمی دارای pH بهینه خود است (Sigüenza-Andrés *et al.*, 2022) لذا کاهش pH خمیرترش در پژوهش حاضر، می‌تواند دلیل کاهش حجم و افزایش سفتی بافت نان خمیرترشی عدس جوانه‌زده باشد زیرا کاهش pH می‌تواند بر عملکرد آنزیم‌ها تأثیر بگذرد. نتایج پژوهش ایراکلی و همکاران (Irakli *et al.*, 2019) نیز نشان داد که نان خمیرترشی سبوس برنج حاوی عصاره رازک به شکل معنی‌داری بیشترین سفتی بافت را در بین نمونه‌های تولیدی دارا بود. همچنین حجم مخصوص به‌دلیل افزودن خمیرترش سبوس برنج با عصاره رازک ($۳/۴ cm^3g^{-1}$) نسبت به نمونه شاهد ($۳/۸ cm^3g^{-1}$) کاهش یافت.

جدول ۲- ویژگی‌های کیفی نان گندم (C) در مقایسه با نان‌های گندم حاوی پروپیونات کلسیم (CP)، عصاره رازیانه (E)، عدس (L)، عدس جوانه زده (SL)، عدس تخمیر شده (FL)، عدس جوانه‌زده تخمیر شده (FSL)، عدس جوانه‌زده تخمیر شده + عصاره رازیانه (FSL + E) و عدس جوانه‌زده تخمیر شده + عصاره رازیانه (FSL + E)

Table 2- Quality characteristics of wheat bread (C) compared to wheat bread samples containing calcium propionate (CP), fennel extract (E), lentil (L), sprouted lentil (SL), fermented lentil (FL), fermented sprouted lentil (FSL), fermented sprouted lentil + fennel extract (FSL + E) and fermented lentil + fennel extract (FL + E). Different letters in each column indicate significant difference at *P*<0.05

نمونه نان Bread sample	سفتی بافت Crumb hardness (N)	حجم مخصوص Specific volume (cm^3g^{-1})	فعالیت آبی Water activity	افت وزن Weight loss (%)	پذیرش کلی Overall acceptability
C	3.60 ± 0.70[bc]	2.88 ± 0.17[a]	0.94 ± 0.01[a]	10.25 ± 0.70[e]	4.19 ± 0.07[a]
CP	3.32 ± 0.37[c]	2.86 ± 0.19[a]	0.94 ± 0.00[a]	10.25 ± 0.70[e]	4.06 ± 0.07[a]
E	5.56 ± 0.12[b]	1.95 ± 0.04[bc]	0.94 ± 0.00[a]	19.75 ± 2.12[b]	3.71 ± 0.04[bc]
L	7.73 ± 0.26[a]	1.07 ± 0.00[e]	0.93 ± 0.00[a]	25.00 ± 1.41[a]	3.63 ± 0.00[d]
SL	3.87 ± 0.07[bc]	2.11 ± 0.12[b]	0.93 ± 0.00[a]	19.00 ± 1.41[b]	3.76 ± 0.00[bc]
FL	2.88 ± 0.89[c]	1.39 ± 0.00[de]	0.93 ± 0.00[a]	13.25 ± 3.53[d]	3.68 ± 0.00[cd]
FSL	4.57 ± 0.51[bc]	1.72 ± 0.20[cd]	0.93 ± 0.00[a]	15.50 ± 1.41[c]	3.80 ± 0.02[b]
FL+E	3.32 ± 0.37[c]	1.40 ± 0.21[de]	0.93 ± 0.00[a]	12.50 ± 1.41[d]	3.75 ± 0.01[c]
FSL + E	3.98 ± 2.22[bc]	1.97 ± 0.14[bc]	0.94 ± 0.00[a]	20.25 ± 0.70[b]	3.76 ± 0.02[bc]

حروف متفاوت در هر ستون، تفاوت معنی‌دار در سطح P <۰/۰۵ را نشان می‌دهند.

Different letters show significant difference at *P*<0.05.

پذیرش کلی

تمام نان‌های تولیدی از نظر رنگ، بدون تفاوت معنی‌دار (*P*>۰/۰۵) مورد پذیرش قرار گرفتند. نان گندم حاوی عدس جوانه‌زده تخمیر شده نیز بیشترین امتیاز پذیرش کلی را از بین نان‌های غنی شده به خود اختصاص داد اما افزودن عدس در مقایسه با نمونه شاهد، به شکل معنی‌داری سبب کاهش پذیرش کلی، قابلیت جویدن، احساس دهانی،

شکل و طعم شد. همچنین جایگزینی عدس جوانه‌زده با عدس به شکل معنی‌داری سبب بهبود پذیرش کلی و قابلیت جویدن شد اما طعم، رنگ و شکل آنها تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین افزودن عدس تخمیر شده نسبت به عدس، بدون اختلاف معنی‌دار سبب افزایش پذیرش کلی، قابلیت جویدن، احساس دهانی و شکل نان تولیدی شد. افزودن عصاره رازیانه به فرمولاسیون نان نیز سبب کاهش پذیرش کلی آن شد (جدول ۲).

بدون شک آروما و طعم، مهمترین ویژگی‌های تعیین کننده کیفیت نان از نظر مصرف‌کنندگان می‌باشند. آتودوری و همکاران (Atudorei *et al*., 2022) در مطالعه‌ای از سطوح مختلف (۰ تا ۲۰ درصد) آرد باقلای جوانه‌زده در فرمولاسیون نان استفاده کردند. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که نمونه‌های نان گندم حاوی ۵ درصد آرد باقلای جوانه‌زده بهتر از نمونه شاهد بودند. همچنین افزودن آرد باقلای جوانه‌زده تا ۱۵ درصد به نان مورد پذیرش قرار گرفت. گاردادو و همکاران (Guardado-Félix *et al*., 2020) نیز پس از ارزیابی حسی نان حاوی نخود جوانه‌زده گزارش کردند که افزودن ۱۵ درصد آرد نخود جوانه‌زده، تفاوت معنی‌داری در مزه، بو، رنگ و پذیرش کلی با نمونه شاهد ایجاد نکرد. به‌طور کلی، افزایش سطح آنزیم‌ها در طی جوانه‌زنی به‌ویژه آمیلازها و پروتئازها باعث افزایش میزان قندهای ساده و اسیدهای آمینه در خمیر می‌شود. این اجزاء، پیش‌ساز ترکیبات حاصل از واکنش میلارد هستند که در بهبود مشخصات حسی نان تولیدی تأثیر می‌گذارند (Peñaranda *et al*., 2021). همچنین مشخص شده است که نان خمیرترشی سبب بهبود ویژگی‌های نان و افزایش میزان ترکیبات فرار می‌شود (Hansen & Schieberle, 2005). علاوه بر این، همانطور که مشاهده می‌شود اگرچه استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در صنعت نان فواید زیادی دارد اما نقطه ضعف اصلی ترکیبات مذکور این است که عمدتا عطر و طعم آنها مورد استقبال مصرف‌کنندگان قرار نمی گیرد.

نتیجه‌گیری

امروزه استفاده از حبوبات به‌منظور بهبود ویژگی‌های نان گندم مورد توجه قرار گرفته است. اگر چه حبوبات از نظر تغذیه‌ای غنی و دارای اسیدهای آمینه ضروری هستند اما جایگزینی آردگندم با آرد حبوبات به دلیل کاهش گلوتن، کیفیت نان تولیدی را کاهش می‌دهد. لذا برای رفع این مشکل از حبوبات تخمیرشده یا جوانه‌زده استفاده می‌شود. در این زمینه، استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیک خمیرترش با قابلیت‌های ضدقارچی مناسب با هدف کنترل کپک‌زدگی و بهبود خصوصیات کیفی نان تولیدی از اهمیت بسزایی برخوردار است. در پژوهش حاضر، تخمیر کنترل شده عدس و عدس جوانه‌زده حاوی عصاره رازیانه با جدایه لاکتیکی منتخب به‌عنوان کشت آغازگر محافظت‌کننده سبب بهبود ویژگی‌های بافتی و پذیرش کلی نان گندم تولیدی شد. علاوه بر این، تخمیر کنترل شده در تعویق کپک‌زدگی محصول تولیدی نیز مؤثر بود. از این رو، استفاده از حبوبات جوانه‌زده تخمیر شده می‌تواند راهکاری ایمن و ارزان جهت بهبود ویژگی‌های نان گندم غنی شده در صنایع نانوایی مورد استفاده قرار گیرد.

میزان مشارکت

مینا رسولی‌فر: تحقیق و بررسی، نرم‌افزار، **علیرضا صادقی:** مدیریت پروژه، اعتبارسنجی، نوشتن- بررسی و ویرایش، **فهیمه حاجی‌نیا:** نظارت، نوشتن- پیش‌نویس اصلی، **مریم ابراهیمی:** مدیریت داده‌ها، نظارت، **محمد قربانی:** نظارت.

منابع تأمین مالی

بخشی از هزینه‌های اجرای این پژوهش توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان جهت اجرای پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم مینا رسولی‌فر به شماره دانشجویی ۹۹۳۱۵۲۳۱۰۱ در رشته علوم و مهندسی صنایع غذایی-زیست فناوری مواد غذایی به شماره ثبت ۷۹۴۹۹۰ پژوهشگاه علوم و فناوری اطلاعات ایران مورخ ۱۴۰۰/۱۲/۱۷ تأمین شده است.

Referrences

1. AACC International. (2010). *Approved methods of the American association of cereal chemists*. 11th Ed. St. Paul, MN.
2. Abnous, K., Brooks, S.P., Kwan, J., Matias, F., Green-Johnson, J., Selinger, L.B., Thomas, M., & Kalmokoff, M. (2009). Diets enriched in oat bran or wheat bran temporally and differentially alter the composition of the fecal community of rats. *The Journal of Nutrition*, *139*, 2024-2031. https://doi.org/10.3945/jn.109.109470
3. Aryashad, M., Sadeghi, A., Nouri, M., Ebrahimi, M., Kashaninejad, M., & Aalami, M. (2023). Use of fermented sprouted mung bean (*Vigna radiata*) containing protective starter culture LAB to produce clean-label fortified wheat bread. *International Journal of Food Science & Technology*, *58*, 3310-3320. https://doi.org/10.1111/ijfs.16236
4. Atudorei, D., Ropciuc, S., & Codină, G.G. (2022). Possibilities to use germinated lupine flour as an ingredient in breadmaking to improve the final product quality. *Agronomy*, *12*, 667. https://doi.org/10.3390/agronomy12030667

5. Axel, C., Brosnan, B., Zannini, E., Furey, A., Coffey, A., & Arendt, E.K. (2016). Antifungal sourdough lactic acid bacteria as biopreservation tool in quinoa and rice bread. *International Journal of Food Microbiology*, *239*, 86-94. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.006
6. Axel, C., Zannini, E., & Arendt, E.K. (2017). Mold spoilage of bread and its biopreservation: A review of current strategies for bread shelf-life extension. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(16), 3528-3542. https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1147417
7. Coda, R., Rizzello, C.G., Nigro, F., De Angelis, M., Arnault, P., & Gobbetti, M. (2008). Long-term fungal inhibitory activity of water-soluble extracts of *Phaseolus vulgaris* cv. Pinto and sourdough lactic acid bacteria during bread storage. *Applied and Environmental Microbiology*, *74*, 7391-7398. https://doi.org/10.1128/AEM.01420-08
8. Coda, R., Varis, J., Verni, M., Rizzello, C.G., & Katina, K. (2017). Improvement of the protein quality of wheat bread through faba bean sourdough addition. *LWT-Food Science and Technology*, *82*, 296-302. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.062
9. Donkor, O.N., Stojanovska, L., Ginn, P., Ashton, J., & Vasiljevic, T. (2012). Germinated grains–sources of bioactive compounds. *Food Chemistry*, *135*, 950-959. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.058
10. Ebrahimi, M., Noori, S.M.A., Sadeghi, A., emir Coban, O., Zanganeh, J., Ghodsmofidi, S.M., Malvandi, Z., & Raeisi, M. (2022). Application of cereal-bran sourdoughs to enhance technological functionality of white wheat bread supplemented with pumpkin (*Cucurbita pepo*) puree. *LWT-Food Science and Technology*, *158*, 113079. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113079
11. Gerez, C.L., Torino, M.I., Rollán, G., & de Valdez, G.F. (2009). Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control*, *20*, 144-148. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.03.005
12. Gobbetti, M., Rizzello, C.G., Di Cagno, R., & De Angelis, M. (2014). How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods. *Food Microbiology*, *37*, 30-40. https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.012
13. Graça, C., Lima, A., Raymundo, A., & Sousa, I. (2021). Sourdough fermentation as a tool to improve the nutritional and health-promoting properties of its derived-products. *Fermentation*, *7*, 246. https://doi.org/10.3390/fermentation7040246
14. Guardado-Félix, D., Lazo-Vélez, M.A., Pérez-Carrillo, E., Panata-Saquicili, D.E., & Serna-Saldívar, S.O. (2020). Effect of partial replacement of wheat flour with sprouted chickpea flours with or without selenium on physicochemical, sensory, antioxidant and protein quality of yeast-leavened breads. *LWT-Food Science and Technology*, *129*, 109517. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109517
15. Hajinia, F., Sadeghi, A., & Sadeghi Mahoonak, A. (2021). The use of antifungal oat-sourdough lactic acid bacteria to improve safety and technological functionalities of the supplemented wheat bread. *Journal of Food Safety*, *41*, e12873. https://doi.org/10.1111/jfs.12873
16. Hansen, A., & Schieberle, P. (2005). Generation of aroma compounds during sourdough fermentation: applied and fundamental aspects. *Trends in Food Science & Technology*, *16*, 85-94. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.03.007
17. Irakli, M., Mygdalia, A., Chatzopoulou, P., & Katsantonis, D. (2019). Impact of the combination of sourdough fermentation and hop extract addition on baking properties, antioxidant capacity and phenolics bioaccessibility of rice bran-enhanced bread. *Food Chemistry*, *285*, 231-239. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.145
18. Jenkins, D.J., Kendall, C.W., Augustin, L.S., Mitchell, S., Sahye-Pudaruth, S., Mejia, S.B., & Josse, R.G. (2012). Effect of legumes as part of a low glycemic index diet on glycemic control and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *Archives of International Medicine*, *172*, 1653-1660. https://doi.org/10.1001/2013.jamainternmed.70
19. Katina, K., Heiniö, R. ., Autio, K., & Poutanen, K. (2006). Optimization of sourdough process for improved sensory profile and texture of wheat bread. *LWT-Food Science and Technology*, *39*, 1189-1202. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.08.001
20. Magnusson, J., Ström, K., Roos, S., Sjögren, J., & Schnürer, J. (2003). Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, *219*, 129-135. https://doi.org/10.1016/S0378-1097(02)01207-7
21. Montemurro, M., Pontonio, E., Gobbetti, M., & Rizzello, C.G. (2019). Investigation of the nutritional, functional and technological effects of the sourdough fermentation of sprouted flours. *International Journal of Food Microbiology*, *302*, 47-58. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.005
22. Naqash, F., Gani, A., Gani, A., & Masoodi, F.A. (2017). Gluten-free baking: Combating the challenges-A review. *Trends in Food Science & Technology*, *66*, 98-107. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.004
23. Nelson, K., Stojanovska, L., Vasiljevic, T., & Mathai, M. (2013). Germinated grains: a superior whole grain functional food?. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, *91*, 429-441. https://doi.org/10.1139/cjpp-2012-0351

24. Nionelli, L., Pontonio, E., Gobbetti, M., & Rizzello, C.G. (2018). Use of hop extract as antifungal ingredient for bread making and selection of autochthonous resistant starters for sourdough fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, *266*, 173-182. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.002
25. Patrascu, L., Vasilean, I., Turtoi, M., Garnai, M., & Aprodu, I. (2019). Pulse germination as tool for modulating their functionality in wheat flour sourdoughs. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, *11*, 269-282. https://doi.org/10.3920/QAS2018.1364
26. Peñaranda, J.D., Bueno, M., Álvarez, F., Pérez, P.D., & Perezábad, L. (2021). Sprouted grains in product development. Case studies of sprouted wheat for baking flours and fermented beverages. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, *25*, 100375. https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100375
27. Perri, G., Calabrese, F.M., Rizzello, C.G., De Angelis, M., Gobbetti, M., & Calasso, M. (2020). Sprouting process affects the lactic acid bacteria and yeasts of cereal, pseudocereal and legume flours. *LWT-Food Science and Technology*, *126*, 109314. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109314
28. Perri, G., Rizzello, C.G., Ampollini, M., Celano, G., Coda, R., Gobbetti, M., De Angelis, M., & Calasso, M. (2021). Bioprocessing of barley and lentil grains to obtain in situ synthesis of exopolysaccharides and composite wheat bread with improved texture and health properties. *Foods*, *10*, 1489. https://doi.org/10.3390/foods10071489
29. Purabdolah, H., Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Kashaninejad, M., Shahiri Tabarestani, H., & Mohamadzadeh, J. (2020). Techno-functional properties of the selected antifungal predominant LAB isolated from fermented acorn (*Quercus persica*). *Journal of Food Measurement and Characterization*, *14*, 1754-1764. https://doi.org/10.1007/s11694-020-00423-2
30. Rizzello, C.G., Calasso, M., Campanella, D., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2014). Use of sourdough fermentation and mixture of wheat, chickpea, lentil and bean flours for enhancing the nutritional, texture and sensory characteristics of white bread. *International Journal of Food Microbiology*, *180*, 78-87. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.04.005
31. Rizzello, C.G., Lavecchia, A., Gramaglia, V., & Gobbetti, M. (2015). Long-term fungal inhibition by *Pisum sativum* flour hydrolysate during storage of wheat flour bread. *Applied and Environmental Microbiology*, *81*, 4195-4206. https://doi.org/10.1128/AEM.04088-14
32. Rizzello, C.G., Nionelli, L., Coda, R., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2010). Effect of sourdough fermentation on stabilisation, and chemical and nutritional characteristics of wheat germ. *Food Chemistry*, *119*, 1079-1089. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.016
33. Rizzello, C.G., Verni, M., Bordignon, S., Gramaglia, V., & Gobbetti, M. (2017). Hydrolysate from a mixture of legume flours with antifungal activity as an ingredient for prolonging the shelf-life of wheat bread. *Food Microbiology*, *64*, 72-82. https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.12.003
34. Rouhi, E., Sadeghi, A., Jafari, S.M., Abdolhoseini, M., & Assadpour, E. (2023). Effect of the controlled fermented quinoa containing protective starter culture on technological characteristics of wheat bread supplemented with red lentil. *Journal of Food Science and Technology*, *60*, 2193-2203. https://doi.org/10.1007/s13197-023-05746-8
35. Romano, A., Gallo, V., Ferranti, P., & Masi, P. (2021). Lentil flour: Nutritional and technological properties, in vitro digestibility and perspectives for use in the food industry. *Current Opinion in Food Science*, *40*, 157-167. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.04.003
36. Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Hajinia, F., Kharazmi, M.S., & Jafari, S.M. (2023). FoodOmics as a promising strategy to study the effects of sourdough on human health and nutrition, as well as product quality and safety; back to the future. *Trends in Food Science & Technology*, *136*, 24–47. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.03.026
37. Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Mortazavi, S.A., & Abedfar, A. (2019). Application of the selected antifungal LAB isolate as a protective starter culture in pan whole-wheat sourdough bread. *Food Control*, *95*, 298-307. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.08.013
38. Sekwati-Monang, B., Valcheva, R., & Gänzle, M.G. (2012). Microbial ecology of sorghum sourdoughs: effect of substrate supply and phenolic compounds on composition of fermentation microbiota. *International Journal of Food Microbiology*, *159*, 240-246. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.09.013
39. Sigüenza-Andrés, T., Pando, V., Gómez, M., & Rodríguez-Nogales, J.M. (2022). Optimization of a simultaneous enzymatic hydrolysis to obtain a high-glucose slurry from bread waste. *Foods*, *11*, 1793. https://doi.org/10.3390/foods11121793
40. Vogelmann, S.A., & Hertel, C. (2011). Impact of ecological factors on the stability of microbial associations in sourdough fermentation. *Food Microbiology, 28*, 583-589. https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.11.010